

AMINOSÄURENVERLUSTE IM DIALYSAT
BEI PATIENTEN
UNTER CHRONISCHER HÄMODIALYSE

MICHAEL DÖRR

1979

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

AMINOSÄURENVERLUSTE IM DIALYSAT
BEI PATIENTEN UNTER CHRONISCHER HÄMODIALYSE

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Michael Dörr
aus Zwickau

Mainz 1979

Fachbereichsdekan: Professor Dr. E. Straub
1. Gutachter: Professor Dr. A. Distler
2. Gutachter: Professor Dr. Th. Philipp
Tag der mündlichen Prüfung: 23. Mai 1979



Gesamtherstellung
o/o
DITTERS BÜRODIENST
6501 HEIDESHEIM/RHEIN

... und wer zuviel begreift
dem geht das Ewige vorbei.

Rilke



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

=====

I.	EINFÜHRUNG	1
II.	PATIENTEN UND METHODIK	
	a) Patienten	3
	b) Dialysebedingungen	3
	c) Gewinnung von Patientenplasma vor und nach Dialyse	6
	d) Gewinnung von Dialysat kontinuierlich über die gesam- te Dialysedauer	7
	e) Bestimmung der Gesamtdialy- satmenge	7
	f) Überwachung der Versuche	8
	g) Aminosäurenbestimmung in Plasma und Dialysat	9
	h) Qualitätskontrolle der Aminosäurenanalysen	10
	i) Auswertung und statistische Berechnung	11
III.	ERGEBNISSE	
	a) Qualitätskontrollen der Methoden	14
	b) Plasmaamino-säuren vor Beginn der Dialyse	16
	c) Vergleich der Plasmaamino-säu- renspiegel bei Beginn und Ende der Dialyse	18
	d) Aminosäurenverluste im Dialysat	21
	e) Vergleich essentieller Amino- säuren in Plasma und Dialysat	25

IV. DISKUSSION

1. Diskussion der Aminosäurenanalytik

- a) "Normwerte" der Aminosäuren
in der Literatur 28
- b) Methodische Probleme der
Aminosäurenanalytik im Plasma 30
- c) Methodische Probleme der Amino-
säurenanalytik im Dialysat 33
- d) Kritik der eigenen Aminosäuren-
befunde 34

2. Diskussion der Aminosäurenverluste im Dialysat

35

3. Schlußfolgerungen

39

V. ZUSAMMENFASSUNG

41

VI. LITERATURVERZEICHNIS

42

I. EINFÜHRUNG

Patienten, die das Stadium einer terminalen Niereninsuffizienz erreicht haben, können auf längere Sicht nur durch Anwendung von Dialyseverfahren überleben. Bei einer ständig steigenden Patientenzahl wird als übliches Verfahren die chronisch intermittierende Hämodialyse durchgeführt. Man schätzt zum 1. Januar 1976 die Zahl der in der Welt behandelten dialysepflichtigen Patienten auf ca. 64.000 (European Dialysis and Transplant Association, 1976).

Die Möglichkeit, harnpflichtige Stoffe über einen längeren Zeitraum hinweg durch extrakorporale Hämodialyse zu eliminieren, hat eine Reihe von Fragen bezüglich der diätetischen und medikamentösen Behandlung solcher chronisch dialysierten Patienten aufgeworfen.

Unter den herkömmlichen Langzeitdialyseverfahren mit bis zu 24 Dialysestunden pro Woche bestehen bei vielen Patienten typische Erscheinungen wie Anämie, Neuro- und Osteopathien sowie zahlreiche Stoffwechselstörungen. Von verschiedenen Autoren wird ein bis dahin nur ungenügend beherrschbarer und trotz ausreichender Ernährung persistierender Eiweißmangel des Dialysepatienten beschrieben. Als Zeichen dieses Eiweißmangels werden u.a. gewertet:

- ein langfristig fallendes Körpergewicht mit Abnahme der Muskelmasse
- erniedrigte Transferrinspiegel im Serum

- erniedrigtes Gesamteiweiß im Serum
- erniedrigte Komplementspiegel im Serum
- Verschiebung des Aminosäurenspektrums
im Plasma (14, 23, 28, 32, 33, 50, 54).

Für diesen Proteinmangel wird vor allem ein durch die Dialyse bedingter chronischer Aminosäurenverlust verantwortlich gemacht.

Die Literaturangaben über Aminosäurenverluste im Dialysat schwanken ganz erheblich (Tabelle 1), von 1 - 2 g bei Woods (48) bis zu ca. 40 g bei Giordano (15), welche sich aus einer Dialyседauer von 12 Stunden errechnen. Bei Patienten mit Peritonealdialyse werden sogar Verluste bis zu 220 g Eiweiß pro Dialyse angegeben (44).

Tabelle 1 Aminosäurenverluste im Dialysat
bei verschiedenen Autoren

Doyle (10)	1970	1,18 g/h
Kopple (30)	1973	10 - 12 g
Klinkmann (27)	1974	8,5 - 9,2 g
Jennet (23)	1977	1 - 2 g/h
Rubini (41)	1968	4,8 g
Aviram (2)	1971	5,6 - 11,5 g
Giordano (15)	1968	1,4 - 3,3 g/h
Woods (48)	1961	2 g
McGale (35)	1972	6 - 8 g

Wir sind daher der Frage nachgegangen, wie hoch die Verluste an freien Aminosäuren und Peptiden unter intermittierender Hämodialyse sind.

II. PATIENTEN UND METHODIK

a) Patienten

Untersucht wurden 9 Patienten (davon 3 männlich) mit terminaler Niereninsuffizienz im Alter von 23 - 54 Jahren, die seit zwei bis sechs Jahren regelmäßig zweimal wöchentlich dialysiert worden waren. Die Untersuchungen wurden ambulant im Rahmen der routinemäßigen Dialysen in der Dialysestation der I. Medizinischen Universitätskliniken in Mainz durchgeführt. Über die zugrundeliegende Nierenerkrankung, bisherige Behandlungsdauer mit der Dialyse, Alter, Geschlecht und Körpergewicht der Patienten informiert Tabelle 2.

b) Dialysebedingungen

Insgesamt wurden die Patienten während des Untersuchungszeitraumes von Oktober 1974 bis Dezember 1975 sechsmal unter Versuchsbedingungen dialysiert, wobei die ersten beiden Durchgänge der Entwicklung und Kontrolle der Versuchsdurchführung dienten und nicht in die Auswertung gelangten.

Die Dialysedauer betrug 11 - 12 Stunden. Beendet wurde die Dialyse jeweils, wenn das erforderliche Sollgewicht durch Wasserentzug erreicht war oder wenn ein bedrohlicher Blutdruckabfall dies erforderlich machte. Den Patienten wurde eine freizügige Ernährungsweise gestattet, lediglich die Zufuhr von größeren Flüssigkeitsmengen, Obst und Gemüse sowie phosphathaltigen Nahrungsmitteln sollte beschränkt bleiben.

Tabelle 2: Übersicht über die Patienten

Pat.	Geschl.	Alter	Sollge- wicht (kg)	Beh.Dauer (Monate)	Diagnose
Dw.	w	23	52	48	chron.Glomerulonephritis
Ha.	w	34	61	64	chron.Glomerulonephritis
He.	w	35	49	58	Phenacitinniere
Ho.	m	38	54	78	chron.Glomerulonephritis
Ke.	m	48	81	18	chron.Glomerulonephritis
Ki.	w	33	50	28	chron.Glomerulonephritis
Ku.	w	54	54	43	chron.Glomerulonephritis
Le.	m	35	75	60	chron.Glomerulonephritis
We.	w	35	68	55	chron.Glomerulonephritis

$\bar{x} \pm SD$ 37,2 $\pm$ 9,0 60,4 $\pm$ 11,7 50,2 $\pm$ 18,5

Die Dialysen wurden mit einem Einmaldialysator RP5 (Fa. Rhône-Poulenc) mit einer Cuprophane-Membranfläche von $1,2 \text{ m}^2$ durchgeführt. Das Pump- und Überwachungssystem bestand aus vollmonitorisierten Dialysemaschinen der Fa. Drake-Willock. Somit errechnete sich bei 2-maliger Dialyse/Woche eine Dialyseleistung von $26,4 - 28,8 \text{ m}^2 \times \text{h/Woche}$.

Als Dialysekonzentrat wurde BEA der Fa. Fresenius verwandt. 1 Liter Konzentrationslösung ergab nach Verdünnung mit 34 Liter entionisierten Wassers eine Dialyselösung folgender Konzentrationen:

Na ⁺	140,0 mval/l	Cl ⁻	112,5 mval/l
K ⁺	2,0 mval/l	Acetat	35,0 mval/l
Ca ⁺⁺	3,5 mval/l		
Mg ⁺⁺	2,0 mval/l		
147,5 mval/l		147,5 mval/l	

Schlauchsystem und Einmaldialysator waren vor Beginn der Dialyse mit 0,9 % Kochsalzlösung und 5000 USP-E Heparin gefüllt. Nach der Punktion des Brescia-Cimino-Shunts am Unterarm mit Einmalnadeln wurden Schlauchsystem und Dialysator mit Patientenblut aufgefüllt, die im System befindliche Lösung verworfen.

c) Gewinnung von Patientenplasma vor und nach Dialyse

Unmittelbar nach der Punktion des Shunts wurden jeweils 10 ml Patientenblut in vorbereitete, mit Oxalat beschichtete Glasröhrchen abgenommen. Diese Röhrchen waren zuvor mit 8 mg Kaliumoxalat und 12 mg Ammoniumoxalat in 1 ml aqua dest. gefüllt worden. Das Wasser war durch Verdampfen im Wärmeschrank wieder entzogen worden, so daß die Oxalatkristalle an der Wand der Glasröhrchen haften. Eine Verdünnung des Patientenblutes wurde somit vermieden.

Nach der Entnahme wurde das so ungerinnbar gemachte Blut 10 min. bei 3000 Upm zentrifugiert und das Plasma bei -20°C sofort tiefgefroren.

Die Plasmagewinnung nach Beendigung der Dialyse wurde nur beim letzten Versuchsdurchgang durchgeführt, wobei wegen des Ausscheidens von zwei Patienten aus dem Dialyseprogramm nur 7 Patienten in die Auswertung gelangten. Hier wurde in gleicher Weise wie bei der Plasmagewinnung vor der Dialyse verfahren, allerdings wurde darauf geachtet, daß die Blutentnahme vor der Spülung des Platten-Schlauch-Systems zur Rückgewinnung des darin enthaltenen Blutvolumens erfolgte.

d) Gewinnung von Dialysat kontinuierlich über die gesamte Dialysedauer

Um ein gleichmäßiges Spektrum der über die gesamte Dialysezeit ins Dialysat übergetretenen Aminosäuren zu erhalten, wurden mittels Perfusionspumpe 100 ml des abfließenden Dialysats kontinuierlich abgenommen. Der Perfusor war an ein unmittelbar nach dem Dialysator in das ablaufende System eingefügtes Y-Schlauchstück angeschlossen. Die Pumpe wurde eingeschaltet, sobald sich im Dialysator Patientenblut befand, sie wurde abgeschaltet, bevor bei Ende der Dialyse die Spüllösung in das Schlauch-Dialysator-System gelangte.

Das auf diese Weise gewonnene und zur Vermeidung bakteriellen Wachstums mit 100 mg Phenyl-Hg-Borat (Substanz des Antiseptikums Merfen^R) versetzte Dialysat wurde sofort nach Beendigung der Dialyse bei -20°C tiefgefroren.

e) Bestimmung der Gesamtdialysatmenge

Die Bestimmung des Gesamtdialysatverbrauches mittels eines ausreichend genauen Durchflußzählers gelang nicht. Die Gesamtmenge des abfließenden Dialysats aufzufangen, machte wegen der großen Menge von über 300 l/Dialyse technische Schwierigkeiten.

Da das Drake-Willock-System mit einem konstanten Mischungsverhältnis 1 Teil Dialysekonzentrat mit 34 Teilen entionisierten Wassers zum endgül-

tigen Dialysat mischt, ließ sich der Gesamtdialysatverbrauch aus dem während der Dialyse verbrauchten Konzentrat errechnen. Die gefüllten Dialysekonzentratbehälter wurden jeweils vor Beginn und wieder nach Beendigung der Dialyse auf einer Präzisionswaage der Klinikapotheke mit einer Wiegegenauigkeit von ± 5 g ausgewogen. Das verbrauchte Volumen an Dialysekonzentrat errechnete sich aus der so ermittelten Gewichts Differenz unter Einbeziehung des spezifischen Gewichts.

Zur Bestimmung des Volumens wurde 10 x das spezifische Gewicht des Konzentrats bestimmt. Im Mittel ergaben sich pro g 0,8387 ml (min. 0,83372, max. 0,84228). Das spezifische Gewicht des Dialysekonzentrats betrug demnach 1,19227, woraus sich der Gesamtdialysatverbrauch nach der Formel errechnete:

$$\text{Dialysatmenge} = \frac{\text{Konzentratverbrauch (g)}}{1,19227} \times 34$$

f) Überwachung der Versuche

Über den Dialyseverlauf wurde jeweils ein Protokoll erstellt, das neben den Patientendaten die folgenden Dialyseparameter enthielt:

- transmembranöser Druck (Venendruck + Dialysatunterdruck)
- Blutflußgeschwindigkeit (Durchflußmeßgerät d. Fa. Delalande Electrique)

Die Gewichtsabnahme der Patienten während der Dialyse wurde bis auf 100 g genau festgehalten, die Dialysedauer mit einer Genauigkeit von 5 min. Ferner wurde aus dem gewogenen Konzentratverbrauch die sich daraus ergebende Gesamtdialysatmenge errechnet.

Dem ablaufenden Dialysat wurden in der Mehrzahl der Einzeluntersuchungen Proben zur bakteriologischen Bestimmung auf Keimkontamination entnommen.

Besonderer Wert wurde auf die Einnahme einer eiweißreichen Mahlzeit zu Beginn der Dialyse gelegt.

Im weiteren Verlauf schliefen die Patienten in der überwiegenden Zahl der nächtlichen Dialysen.

g) Aminosäurenbestimmung in Plasma und Dialysat

Die gaschromatographischen Aminosäurenanalysen im Patientenplasma und Dialysat wurden im Institut für experimentelle Ernährung e.V., Erlangen durchgeführt.

1. Plasma

Über Ionenaustauschersäulen wurden 4 ml Plasma gereinigt und mit Ammoniak eluiert, anschließend wurde das Eluat am Rotationsverdampfer eingedampft. Nach der Methode von Gehrke und Zanetta (13, 53) wurden die Aminosäuren zu N-trifluor-acetyl-amino-säuren-butylester derivatisiert. Von diesem Derivat

wurden 2 µl in den Gaschromatographen (Hewlett Packard 5720 A) injiziert, die Temperatur am Detektor wurde um 8° C/min von 80° C auf 240° C erhöht. Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte über ein Integratorprogramm (Hewlett Packard 3370 B), die Berechnung der Aminosäurenkonzentration unter Verwendung eines inneren Norleucinstandards, sowie unter Einbeziehung von in Vorversuchen ermittelten Wiederfindungsraten einer definierten Aminosäurenmischung.

2. Dialysat

Ebenso wie die Plasmaproben wurde die eine Hälfte des gewonnenen Dialysats analysiert, die andere Hälfte wurde der sauren Hydrolyse zugeführt, um auch Aminosäuren aus niedermolekularen Peptiden erfassen zu können. 40 ml Dialysat wurden hierzu eingedampft und anschließend wieder in 4 ml 6n HCl gelöst. Die Lösung wurde anschließend im Druckreagenzglas mit Stickstoff begast, verschlossen und 20 Stunden bei 110° C im Glycerinbad gehalten. Danach wurde die Lösung bis zur Trockene abrotiert. Der weitere Arbeitsgang entsprach dem der Aminosäurenbestimmung im Plasma.

h) Qualitätskontrolle der Aminosäurenanalysen

Um die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der gaschromatographischen Aminosäurenanalysen bewerten zu können, als auch um den Einfluß

von Oxalat und Phenyl-Hg-Borat auf die Analyseergebnisse zu erfassen, wurden in kleinen Testserien Qualitätskontrollen durchgeführt.

Um den möglichen Einfluß von Oxalat beurteilen zu können, wurden zunächst wässrige Lösungen von Aminosäuren mit Oxalat versetzt und analysiert. Der Einfluß von Oxalat auf Blut wurde in 5-fach wiederholten Bestimmungen in gleichzeitig entnommenen Blutproben mit und ohne Oxalatzusatz überprüft. Die so gewonnenen Plasma- bzw. Serumproben wurden jeweils mit Hilfe der Gaschromatographie analysiert.

Um den Einfluß von Phenyl-Hg-Borat auf Dialysatproben zu ermitteln, wurden wässrige Aminosäurenlösungen mit Merfen^R versetzt. Auch hier wurden jeweils 5 Dialysatproben identischer Zusammensetzung mit bzw. ohne Phenyl-Hg-Boratzusatz (100 mg) gaschromatographisch analysiert.

Zur Ermittlung der Wiederfindungsrate wurden zusätzlich bekannte Aminosäurenmengen mit Oxalats Serum und Dialysat vermischt und jeweils mit und ohne Zusatz analysiert.

i) Auswertung und statistische Berechnung

Neben den dialysetechnischen Parametern (Ausgangsgewicht, Gewichtsverlust, Dialysedauer, Gesamtdialysatverbrauch, transmembranöser Druck) wurden die Einzeldaten folgender Aminosäuren auf Lochkarten übertragen:

Alanin
Valin
Glycin
Isoleucin
Leucin
Prolin
Threonin
Serin
Methionin
Phenylalanin
Asparaginsäure
Lysin
Tryptophan
Arginin
Hydroxyprolin
Histidin
Glutaminsäure

Es wurden Mittelwerte und Standardabweichungen der Aminosäurenkonzentrationen im Dialysat für jeden einzelnen der 4 Versuche aller 9 Patienten und aller 4 Versuche gemeinsam berechnet. Ferner wurden Mittelwert und Standardabweichung für jeden Patienten aus 4 Versuchen ermittelt. Ebenso wurden mit den Werten des hydrolysierten Dialysats, der Plasmaamino-säuren vor und nach der Dialyse verfahren.

Die Clearance der Aminosäuren durch den Dialysator wurde aus den Gesamtverlusten während einer Dialyse und dem Plasmaamino­säuregehalt errechnet nach der Formel:

$$\text{Cl. Dialysator} = \frac{\text{AS-Konzentr. im Dialysat} \times \text{Dialysatvolumen}}{\text{Plasmaamino­säurenkonzentr.}}$$

Die Korrelation zwischen den Plasmaamino­säuren zu Beginn und Ende der Dialyse, der freien und gebundenen Aminosäuren, dem Aminosäureverlust im Dialysat und den Plasmaamino­säuren wurden auf einer Tischrechenanlage mit Hilfe der kommerziell erhältlichen Programme errechnet.

Die Unterschiede der Plasmaamino­säurenkonzentrationen vor und nach der Dialyse wurden mit Hilfe des gepaarten t-Tests auf Signifikanz geprüft.

III. ERGEBNISSE

a) Qualitätskontrollen der Methoden

Die gaschromatographische Aminosäurenanalyse wird im Institut für experimentelle Ernährung in Erlangen routinemäßig zur Qualitätskontrolle der Produktion von Aminosäurenlösungen verwandt. In diesen in vitro-Analysen werden gut reproduzierbare Ergebnisse mit einem maximalen Variationskoeffizienten von 5 % (für Methionin) ermittelt.

Bei der wiederholten Bestimmung der freien Aminosäurenkonzentrationen im Plasma und im Dialysat wurden jedoch wesentlich ungünstigere Variationskoeffizienten erhalten, die maximal bei 27 % lagen (Tab. 3).

Wesentliche Einflüsse der Oxalat- bzw. Phenyl-Hg-Borat-Zusätze fanden sich nicht.

Die Wiederfindungsrate zugesetzter Aminosäurenlösungen war im Plasma wie auch im Dialysat mit mittleren Fehlern bis zu 36 % unbefriedigend.

Tab. 3: Variationskoeffizienten (%) der
Aminosäurenanalyse im Plasma und
im Dialysat aus 5 Analysen

	Plasma	Dialysat
Asparaginsäure	2,1	7,3
Serin		8,0
Glutaminsäure	2,0	8,7
Prolin	1,6	6,7
Glycin	3,5	6,4
Alanin	3,9	3,3
Valin	9,2	5,6
Methionin	8,5	26,7
Isoleucin	6,4	20,8
Leucin	10,7	17,3
Phenylalanin	4,8	14,6
Ornithin	18,5	21,6
Lysin	16,8	13,8
Arginin		15,8

b) Plasmaamino­säuren vor Beginn der Dialyse

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Plasmaamino­säuren vor Dialysebeginn aller 9 Patienten über den gesamten Versuchszeitraum sind in Tab. 4 wiedergegeben.

Tabelle 4: Plasma-Aminosäuren vor Dialyse
($\bar{x} \pm SD$)

	n		$\mu\text{mol/l}$
Alanin	34	338,7 $\pm$	92,0
Valin	34	170,0 $\pm$	46,2
Glycin	34	354,3 $\pm$	179,0
Isoleucin	34	65,3 $\pm$	16,7
Leucin	34	92,0 $\pm$	23,1
Prolin	34	362,8 $\pm$	125,7
Threonin	34	149,5 $\pm$	58,9
Serin	34	112,9 $\pm$	30,3
Methionin	34	39,2 $\pm$	29,6
Phenylalanin	34	60,0 $\pm$	28,4
Asparaginsäure	34	112,2 $\pm$	51,9
Lysin	34	155,6 $\pm$	59,5
Tryptophan	34	17,2 $\pm$	14,3
Arginin	34	71,3 $\pm$	37,0
OH-Prolin	33	42,2 $\pm$	29,9
Histidin	25	64,2 $\pm$	41,2
Glutaminsäure	34	459,1 $\pm$	180,9

getrennt für die essentiellen Aminosäuren sind die Plasma-Aminosäuren aller 9 Patienten über 4 Dialysen in Abb. 1 dargestellt. Es läßt sich erkennen, daß die einzelnen Aminosäuren weder für den jeweiligen Patienten bei verschiedenen Dialysen, noch für die Patienten untereinander konstant bleiben. Die Plasma-Aminosäurenspiegel zeigen also erhebliche intra- und interindividuelle Schwankungen.

Abb. 1: Plasmaspiegel essentieller Aminosäuren bei 9 Hämodialysepatienten zu Beginn von 4 Dialysen.

ESSENTIELLE PLASMA-AMINOSÄUREN VOR DIALYSE



c) Vergleich der Plasma-Aminosäurenspiegel bei Beginn und Ende der Dialyse

Die Bestimmung der Plasma-Aminosäuren nach Beendigung der Dialyse war in den Vorversuchen bereits erfolgt und hatte keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den Plasma-Aminosäurenkonzentrationen zu Beginn der Dialyse erkennen lassen. Diese Werte sind leider im Bestimmungslabor in den Originalbefunden nicht mehr erhalten, so daß auf ihre Auswertung verzichtet werden mußte. Beim letzten Versuch, bei dem nur noch 7 Patienten zur Verfügung standen, wurden deshalb erneut Plasma-Aminosäurenkonzentrationen auch zu Ende der Dialyse bestimmt.

Die Plasma-Aminosäurenspiegel dieser 7 Patienten vor und nach einer Dialyse sind in Tab. 5 und Abb. 2 wiedergegeben.

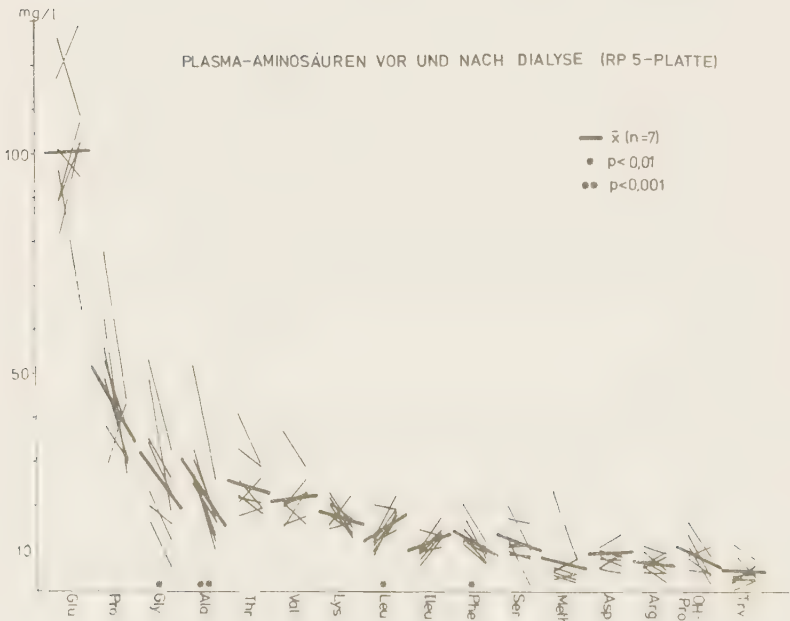
Gegenüber den Ausgangskonzentrationen waren die Spiegel der Plasma-Aminosäuren am Ende der Dialyse im Mittel um 19 % abgefallen. Vergleicht man die Anfangs- und Endkonzentrationen der Plasma-Aminosäuren mit Hilfe des gepaarten t-Testes, ergeben sich nur für Glycin, Alanin und Phenylalanin signifikant erniedrigte Werte. Leucin zeigt sogar gegen Ende der Dialyse einen Anstieg.

Der Quotient Valin/Glycin verbesserte sich bei Dialyseende signifikant von 0,451 auf 0,888 ($p < 0,005$), wogegen der Glycin/Serin-Quotient von 3,53 auf 4,24 nicht signifikant anstieg.

Tabelle 5: Plasmaamino-säuren v o r und n a c h Dialyse ($\mu\text{mol/l}$, $n = 7$, $\bar{x} \pm \text{SD}$)

	vor Dialyse	p	nach Dialyse
Alanin	346,52 $\pm$ 103,00	< 0,001	177,45 $\pm$ 53,65
Valin	177,31 $\pm$ 62,77		186,69 $\pm$ 38,73
Glycin	400,7 $\pm$ 122,38	< 0,01	251,19 $\pm$ 118,51
Isoleucin	70,02 $\pm$ 18,92	-	99,54 $\pm$ 15,64
Leucin	87,34 $\pm$ 28,03	< 0,01	133,40 $\pm$ 18,23
Prolin	448,56 $\pm$ 142,69	-	297,60 $\pm$ 60,79
Threonin	213,59 $\pm$ 69,06	-	191,88 $\pm$ 39,49
Serin	124,38 $\pm$ 37,81	-	91,89 $\pm$ 41,86
Methionin	52,17 $\pm$ 50,86	-	34,52 $\pm$ 14,34
Phenylalanin	84,15 $\pm$ 20,96	< 0,01	51,46 $\pm$ 11,01
Asparaginsäure	62,25 $\pm$ 12,99	-	65,26 $\pm$ 16,26
Lysin	126,06 $\pm$ 22,02	-	104,46 $\pm$ 21,19
Tryptophan	24,20 $\pm$ 18,81	-	21,33 $\pm$ 9,48
Arginin	41,17 $\pm$ 12,54	-	32,88 $\pm$ 15,54
OH-Prolin	79,18 $\pm$ 29,54	-	44,99 $\pm$ 21,64
Glutaminsäure	681,18 $\pm$ 129,36	-	687,63 $\pm$ 123,04

Abb. 2: Plasma-Aminosäurenspiegel bei Beginn und am Ende der Dialyse (n = 7). Am Ende der Dialyse waren nur für Glycin, Alanin und Phenylalanin signifikant erniedrigte Werte gegenüber der Plasmakonzentration zu Beginn der Dialyse nachweisbar. Leucin zeigte sogar einen signifikanten Anstieg.



d) Aminosäurenverluste im Dialysat

Eine bakterielle Kontamination des Dialysats konnte durch den Zusatz von Phenyl-Hg-Borat verhindert werden. Fast alle nicht mit Phenyl-Hg-Borat versetzten Dialysatproben wiesen dagegen eine Keimbesiedlung mit *Proteus mirabilis* auf.

Tab. 6 zeigt Mittelwerte und Standardabweichungen der Aminosäurenkonzentrationen im Dialysat. Es werden für die direkt im Dialysat meßbaren freien Aminosäuren getrennte Werte angegeben, ebenso wie für den Gesamtaminosäurenverlust im Dialysat. Nach saurer Hydrolyse sind zusätzlich Aminosäuren aus niedermolekularen Peptiden nachweisbar, der Gesamtaminosäurenverlust resultiert somit aus den Werten der Aminosäurenanalyse nach saurer Hydrolyse. Die Angaben entsprechen den Aminosäurenverlusten in mmol und sind jeweils für die entsprechenden Gesamtdialysatmengen berechnet.

Im Mittel ergeben diese Werte bei einer Dialysedauer von 695 ± 29 min in 325 ± 26 l Dialysat einen Gesamtverlust von $13,44 \pm 5,55$ g Aminosäuren, darin sind 3,36 g essentielle Aminosäuren enthalten.

Der Verlust freier Aminosäuren im Dialysat liegt bei $8,06 \pm 5,04$ g, der Anteil essentieller Aminosäuren daran beträgt 2,9 g.

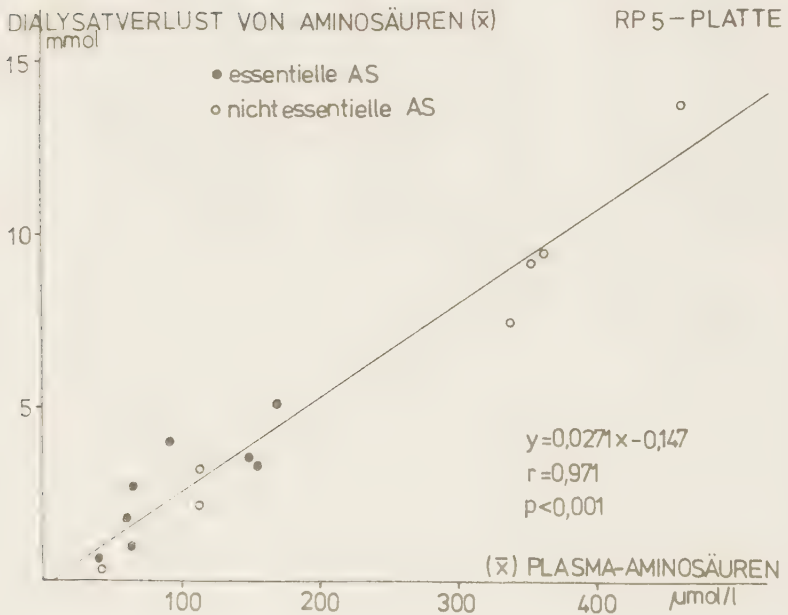
Der transmembranöse Druck betrug im Mittel 228 ± 70 mm Hg, der Blutfluß lag bei 240 ml/min. Die Gewichtsverluste beliefen sich auf $2,7 \pm 1,4$ kg.

Das Verhältnis der Plasma-Aminosäuren zu dem Verlust freier Aminosäuren im Dialysat zeigt Abb. 3. Es besteht eine hochsignifikante Beziehung ($p < 0,001$) des Verlustes an Aminosäuren im Dialysat zur Plasmakonzentration der Aminosäuren zu Beginn der Dialyse. Der Aminosäurenverlust im Dialysat ist der Plasma-Aminosäurenkonzentration somit direkt proportional.

Tabelle 6: Verlust freier und gebundener Aminosäuren im Dialysat (mmol, n = 34, $\bar{x} \pm SD$)

	freie AS		gesamte AS	
Alanin	7,42 $\pm$	4,34	7,33 $\pm$	2,68
Valin	5,12 $\pm$	2,47	5,62 $\pm$	2,50
Glycin	9,24 $\pm$	5,94	19,25 $\pm$	7,38
Isoleucin	2,77 $\pm$	1,52	2,53 $\pm$	0,85
Leucin	4,04 $\pm$	2,15	4,07 $\pm$	1,49
Prolin	9,59 $\pm$	6,32	15,04 $\pm$	4,92
Threonin	3,54 $\pm$	1,71	4,18 $\pm$	1,20
Serin	3,27 $\pm$	1,74	4,15 $\pm$	1,86
Methionin	0,63 $\pm$	0,86	1,79 $\pm$	0,96
Phenylalanin	1,83 $\pm$	1,13	3,99 $\pm$	2,87
Asparaginsäure	2,10 $\pm$	0,54	3,30 $\pm$	1,62
Lysin	3,25 $\pm$	1,50	4,64 $\pm$	2,67
Tryptophan	0,04 $\pm$	0,00	-	-
Arginin	0,06 $\pm$	0,00	0,06 $\pm$	0,00
OH-Prolin	0,27 $\pm$	0,74	0,07 $\pm$	0,00
Histidin	0,95 $\pm$	1,01	0,06 $\pm$	0,00
Glutaminsäure	13,63 $\pm$	9,85	34,67 $\pm$	13,77

Abb. 3: Plasma-Aminosäurenspiegel bei Dialysebeginn und Verlust freier Aminosäuren in 325 l Dialysat. Jeder Punkt entspricht den Mittelwerten einer einzelnen Aminosäure. Die Mittelwerte wurden gewonnen aus den Plasmaproben bei Dialysebeginn und der Konzentration freier Aminosäuren im Dialysat (n = 34). Der Dialyseverlust ist somit direkt proportional der Aminosäurenkonzentration im Plasma ($p < 0.001$).



e) Vergleich essentieller Aminosäuren
in Plasma und Dialysat

In Abb. 4 sind die Aminosäurenspiegel freier Plasmaamino-säuren den Dialysatverlusten freier Aminosäuren und den Gesamtverlusten an Aminosäuren gegenübergestellt. Die Gesamtverluste im Dialysat übersteigen die Verluste freier Aminosäuren deutlich (vgl. Tab. 6).

Die Dialysanzberechnungen für Aminosäuren ergaben im Mittel eine transmembranöse Clearance von 36,6 ml/min.

Bezieht man die Clearance der Aminosäurenverluste auf das Molekulargewicht der einzelnen Aminosäuren, so ist keine Abhängigkeit beider Größen voneinander nachweisbar (Abb. 5).

Abb. 4: Essentielle Aminosäuren in Plasma und Dialysat. Die schwarzen Säulen geben Mittelwerte und Standardabweichung der Plasma-aminosäurenkonzentrationen bei Beginn der Hämodialyse an (n = 34). Die weißen Säulen zeigen die Verluste freier Aminosäuren in 325 l Dialysat während der fast 12-stündigen Dialyse. Die schraffierten Säulen stellen die dazu gehörigen Gesamtverluste von Aminosäuren (freie Aminosäuren und niedermolekulare Peptide) im Dialysat dar. Der Gesamtverlust liegt deutlich über dem Verlust nur freier Aminosäuren. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur essentielle Aminosäuren aufgeführt, für die nichtessentiellen Aminosäuren ergeben sich gleichartige Befunde.

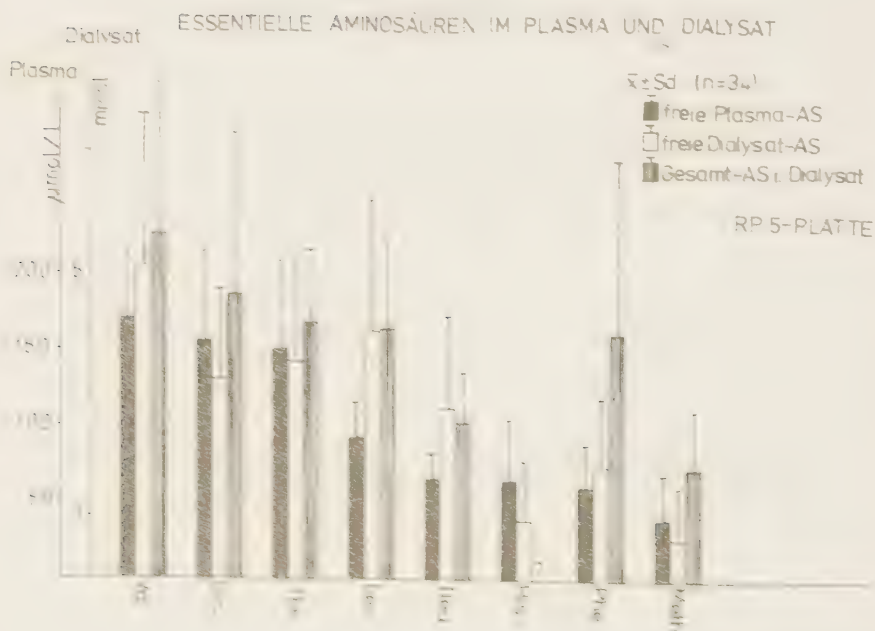
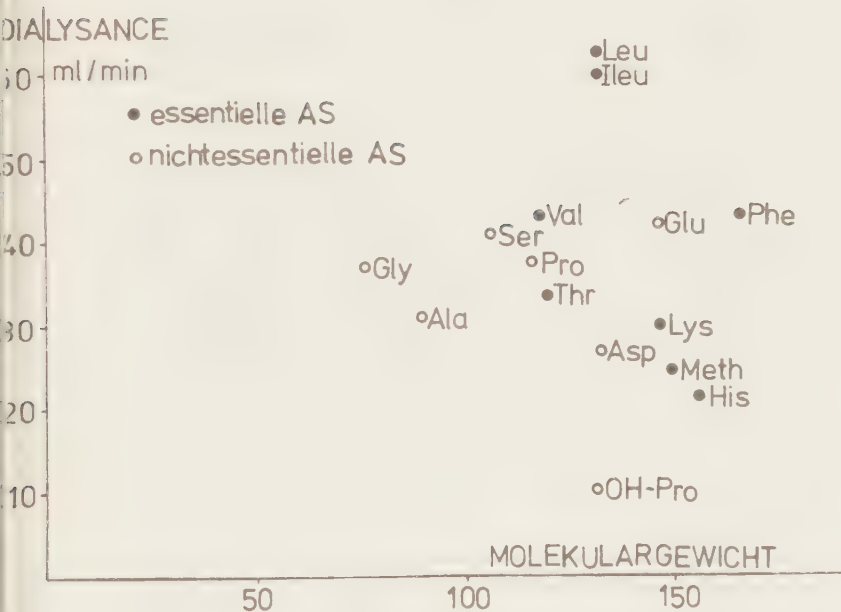


Abb. 5: Beziehung zwischen dem Molekulargewicht einzelner Aminosäuren und ihrer Clearance durch die Plattenmembran. Eine Abhängigkeit beider Größen voneinander besteht nicht.



IV. DISKUSSION

1. Diskussion der Aminosäurenanalytik

a) "Normwerte" der Aminosäuren in der Literatur

Die Angaben der Literatur über Plasmaamino-säurenkonzentrationen für gesunde Probanden sind divergent. Tab. 7 faßt Werte von 21 Autoren zusammen und läßt die Schwierigkeit erkennen, Normwerte für Plasmaamino-säuren zu definieren. Die Gründe hierfür sind, neben methodischen Unterschieden in der Aminosäurenanalytik, sicherlich in den zahlreichen Einflüssen zu suchen, denen Plasma-Aminosäurenspiegel generell unterworfen sind: Veränderungen der Plasmakonzentrationen durch Nahrungsaufnahme (47), körperliche Belastung (6), tagesrhythmische Schwankungen (22, 49), sowie hohe inter- und intraindividuelle Variabilität (1, 24). Es ist somit verständlich, daß die Kollektive verschiedener Autoren nicht oder nur bedingt miteinander vergleichbar sind. Selbst aus großen Untersuchungsreihen kann für den Einzelfall kein verbindlicher Normwert definiert werden. Es besteht lediglich die Möglichkeit, Normalbereiche mit relativ großer Streuung um einen Mittelwert anzugeben. Dieser nun allerdings recht unscharfe Bereich läßt Vergleiche mit Patienten unter chronischer Dialysebehandlung nur bedingt zu.

Die Höhe der Plasmaamino-säurenspiegel bei Dialysepatienten variieren von Autor zu Autor ebenfalls stark. Die Werte von 5 Autoren über Konzentrationen freier Aminosäuren im Plasma bei Dialysepatienten faßt Tab. 8 zusammen. Giordano (14) hat bei Patienten mit zunehmender Dauerbehandlung durch die chronische Hämodialyse über Jahre Verschiebungen der Plasmaamino-säurenspiegel beobachtet und entsprechend unterschiedliche Werte angeben.

Trotz der Schwierigkeiten, sowohl für Nierengesunde als auch für Dialysepatienten Normwerte über die Plasmaamino-säurenspiegel anzugeben, wurden von einer Reihe von Autoren Vergleiche der Plasmaamino-säurenkonzentrationen beider Probandengruppen angestellt. Von der Mehrzahl dieser Autoren wurden die essentiellen Aminosäuren vermindert gefunden (3, 14, 17, 18, 35, 51, 52), während die nichtessentiellen Aminosäuren vorwiegend erhöht erscheinen.

Der Quotient von essentiellen und nichtessentiellen Aminosäuren, entsprechend dem Quotienten Valin/Glycin, ist erniedrigt (14), Phenylalanin wird erhöht gefunden (3), der Quotient Tyrosin/Phenylalanin vermindert (14, 29, 35, 51, 52). Diese Veränderungen scheinen gleichzeitig mit der Verminderung der Nierenfunktion (Glomerulusfiltrat) zu korrelieren und sind somit Ausdruck

der Urämie (51, 52).

Vergleicht man diese Befunde mit den Angaben von Rubini (41), der alle Aminosäurenkonzentrationen bei Dialysepatienten "normal" fand, während Held (20) alle Aminosäuren im Plasma als vermindert angab, bestätigt sich die Unsicherheit in der Definition von Normalwerten und Vergleichen gegenüber gesunden Patientenkollektiven auch bei Dialysepatienten.

b) Methodische Probleme der Aminosäuren-Analytik im Plasma

Daß Aminosäurenkonzentrationen bereits durch Antikoagulantienzusatz verfälscht werden können, hat Perry (36) nachgewiesen.

Unsere ersten Erfahrungen mit der gaschromatographischen Aminosäurenanalyse zeigten hohe Chromatogramm-Peaks, deren Herkunft nicht ermittelt werden konnte. Nachdem Heparin durch Oxalat ersetzt worden war, verschwanden diese Artefakte. In unseren methodischen Qualitätskontrollen erwies sich Oxalat ohne wesentlichen Einfluß auf die Analysenergebnisse.

Andere Fehlerquellen bei der Aminosäurenanalyse sind Hämolyse und Kontamination des Plasmas mit Leukozyten. Hierdurch können erhebliche Anstiege für Taurin, Glutaminsäure und Ornithin entstehen, während die Cystin- und Argininspiegel absinken (36).

Tabelle 7: Konzentrationen der freien Aminosäuren im Plasma bei Normalpersonen
Werte von 21 Untersuchungen - umgerechnet in $\mu\text{mol/l}$

	Dolif (8) n = 34 $\bar{x} \pm \text{SD}$	Held (20) n = 29 $\bar{x} \pm \text{SD}$	Gulyassy (16) n = 15 $\bar{x} \pm \text{SEM}$	Young (51) n = 11 $\bar{x} \pm \text{SD}$	Breuer (5) n = 7 $\bar{x} \pm \text{SD}$	(9 Autoren) Hamilton (19) n = 76 Normalw.	(6 Autoren) Soupart (47) n = 30 Normalw.	Rubini (41) n = 5 Normalw.
Taurin	99,8	33,3	50,4	2,5	-	28,1-173,3	32 - 138	33 - 44
Threonin	127,6	34,4	144,4	6,7	187,2	78,9-193,1	76 - 194	356 - 618
Serin	129,4	29,5	112,3	4,8	151,3	64,7-193,2	76 - 164	83 - 265
Prolin	189,3	63,4	152,9	10,4	158,1	101,6-336,1	103 - 290	-
Citrullin	23,4	10,8	29,1	2,9	37,1	12,0-55,4	-	-
Alanin	252,8	57,3	226,5	13,3	13,8	119,8-554,2	179 - 587	230 - 425
Alanin	360,3	70,7	326,6	15,7	249,1	209,9-661,1	213 - 472	367 - 860
Cystin	55,7	21,1	38,7	4,2	51,2	8,3-84,1	-	-
Valin	233,0	31,6	211,7	12,8	248,4	140,9-316,7	168 - 317	187 - 456
Methionin	33,5	11,4	22,1	1,3	21,5	6,0-39,5	11 - 30	18 - 50
Isoleucin	75,2	16,0	57,2	2,3	86,9	36,6-97,6	40 - 99	35 - 131
Leucin	128,1	21,3	112,8	4,6	122,0	110,5-175,3	78 - 176	85 - 263
Tyrosin	51,9	14,4	50,7	1,7	59,1	21,5-87,2	22 - 83	45 - 155
Phenylalanin	47,2	10,3	49,0	1,2	56,9	36,9-87,7	38 - 73	48 - 108
Ornithin	84,0	30,3	54,5	3,0	84,7	29,5-105,9	30 - 64	77 - 140
Lysin	179,2	41,0	168,3	5,5	186,7	82,8-238,1	105 - 207	176 - 361
Histidin	13,5	17,4	79,3	1,9	103,8	31,6-107,0	32 - 97	89 - 133
Arginin	102,8	33,0	81,5	3,5	106,8	21,2-137,8	40 - 140	73 - 178
Glutamin	-	-	55,0	21,9	-	415,3 694,5	140 - 570	-
Glutaminsäure	-	-	31,3	2,7	126,0	14,3 191,6	20 - 90	90 - 153
Asparagin	-	-	47,7	3,8	-	40,9-49,2	-	-
Asparaginsäure	-	-	3,0	0,8	36,1	0 - 24,0	1 - 11	25 - 46
Tryptophan	-	-	53,9	2,0	59,7	25,0-73,0	-	37 - 59

Tabellp. 8: Konzentrationen der freien Aminosäuren im Plasma bei Dialysepatienten
(Werte von 5 Autoren - umgerechnet in $\mu\text{mol/l}$)

	Heid (20)	Giordano (14)	(2 Jahre D.)	(4-5 Jahre D.)	Rubini (41)	Young (51)	Gulyassy (17)
	n = 20	(1 Jahr D.) n = 16	n = 5	n = 5	n = 15	n = 9	n = 9
	$\bar{x} \pm \text{SD}$	$\bar{x} \pm \text{SD}$	$\bar{x} \pm \text{SD}$	$\bar{x} \pm \text{SD}$	$\bar{x}$ (Bereich)	$\bar{x} \pm \text{SD}$	$\bar{x} \pm \text{SD}$
Taurin	21,9	128,8	138,7	119,7	18 (4-32)	-	109,0 28,1
Threonin	40,9	125,1	235,9	203,2	349 (28-674)	141,0 47,0	97,4 16,8
Serin	38,5	140,8	213,2	233,1	141 (74-231)	121,8 39,0	-
Prolin	133,7	284,9	519,4	69,5	-	221,5 85,1	294,5 25,2
Citrullin	-	98,3	153,0	153,0	-	77,6 31,4	59,9 6,9
Glyzin	130,2	414,3	667,4	783,3	425 (192-758)	415,6 175,8	-
Alanin	126,8	34,6	83,9	141,2	318 (85-474)	359,2 141,4	279,5 22,4
Valin	85,4	428,8	568,0	687,0	225 (87-497)	91,6 47,9	56,6 12,5
Methionin	41,0	160,5	190,4	257,8	164 (76-269)	207,4 33,3	172,4 8,0
Isoleucin	17,1	26,1	34,2	35,5	26 (5-45)	17,4 5,4	-
Leucin	32,4	73,2	87,7	114,4	63 (18-119)	77,7 24,4	50,3 3,8
Tyrosin	40,0	17,5	123,5	163,1	134 (59-241)	125,0 32,0	-
Phenylalanin	14,1	5,5	49,1	83,2	57 (19-125)	39,7 23,2	28,2 2,2
Prothionin	24,0	8,5	85,4	147,7	79 (37-174)	69,0 17,6	-
Ornithin	57,6	28,0	130,9	170,3	158 (85-233)	80,2 24,2	68,9 5,6
Lysin	103,7	18,5	170,3	246,9	259 (125-517)	136,8 47,2	-
Asparagin	55,2	5,8	98,6	103,6	183 (86-307)	99,3 49,0	58,0 4,5
Asparagin	53,2	27,0	142,9	140,6	115 (40-228)	109,1 49,9	-
Glutaminsäure	57,7	15,6	131,9	170,6	178 (67-287)	168,6 63,2	71,4 8,2
Asparaginsäure	-	35,3	44,3	51,8	89 (56-117)	15,0 8,3	16,5 2,3
Tryptophan	-	-	-	-	29	-	18,1 3,8

Eine erhebliche Fehlerquelle ist im längeren Einfrieren der Plasmaproben zu sehen. Dickinson (7) hat daher Lagertemperaturen von -68°C empfohlen, jedoch sind nach seiner Ansicht selbst bei dieser Lagertemperatur Anstiege von Glutamin und Asparaginsäure nachweisbar.

Tryptophan wird mit den üblichen Analyseverfahren nur teilweise erfaßt und von Kreatinin überlagert (2, 4). Hess und Udenfriend (21) haben daher die Fluorometrie zur Bestimmung von Tryptophan eingeführt.

c) Methodische Probleme der Aminosäuren-Analytik im Dialysat

Wie Giordano (15) nachweisen konnte, sind im Dialysat neben freien Aminosäuren auch Oligopeptide vorhanden, die als Verlust bei der Dialyse berücksichtigt werden müssen. Jedoch ist die zur Analytik dieser Aminosäuren erforderliche saure Hydrolyse ebenso problematisch: Cystin, Methionin, Asparagin, Glutamin, Citrullin werden zerstört, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Ornithin steigen hingegen an (30, 37).

d) Kritik der eigenen Aminosäurenbefunde

Die bei unseren Aminosäurenanalysen teilweise aufgetretenen hohen Standardabweichungen und zu hohen Variationskoeffizienten schränken den Wert der aus diesen Befunden abzuleitenden Informationen sicherlich ein.

In Kenntnis der Literaturangaben über die Aminosäurenanalytik in biologischen Proben mit sehr differenten, ja teilweise sogar sich widersprechenden Aussagen, ist dieses Resultat jedoch nicht verwunderlich.

Probleme wie die Unsicherheit der labilen Eiweißbindung verschiedener Aminosäuren, klinisch nicht sichtbare Hämolyse, Wahl und Dosierung des Antikoagulantienzusatzes, die Geschwindigkeit der Probenverarbeitung, des Einfrierens und der Lagerungsdauer bis zur Analyse erfordern eine strenge Standardisierung all dieser Einflüsse. Jedoch sind selbst bei einer exakten Beachtung dieser Faktoren Fremdeinflüsse durch biologische Schwankungen der Aminosäurenspiegel nicht zu umgehen. Ein Ausweg hieraus wäre allenfalls eine vollständige Normierung aller Ernährungs- und Lebensbedingungen der Patienten. Da eine derartige Standardisierung des Patientenkollektivs aus naheliegenden Gründen nicht herzustellen ist, scheint uns die Forderung gerechtfertigt, alle Aminosäurenbefunde aus biologischen Medien mit Zurückhaltung zu interpretieren.

2. Diskussion der Aminosäurenverluste im Dialysat

Nach unseren Befunden wird bei einer wöchentlichen Gesamtdialysedauer von 24 Stunden der Eiweißhaushalt des Dialysepatienten durch einen Aminosäurenverlust von 16 - 38 g belastet, d.h., daß bei jeder Dialyse rechnerisch der Gesamtgehalt freier Aminosäuren aus 25 l Plasma ins Dialysat verloren geht. Die Clearance von Aminosäuren durch die Dialysemembran beträgt etwa die Hälfte der Clearance von Harnstoff, jedoch sind die Plasmaaminosäurespiegel nach der Dialyse nur unwesentlich verändert (Abb. 2, in Übereinstimmung mit 2, 9, 37, 40, 41). Der Grund hierfür ist wahrscheinlich in einer ständigen Mobilisierung und Nachlieferung von ausgeschwemmten Aminosäuren aus einem "endogenen pool" zu sehen (2, 3).

Entsprechend den Befunden eines Hungerzustandes, wie sie auch in den ersten Tagen einer Nulldiät bei Gesunden auftreten (42, 43, 55), fanden wir bei Beendigung der Dialyse einen Anstieg von Leucin, Isoleucin und Valin bei gleichzeitigem Abfall von Alanin und Glycin. Da diese 5 Plasmaaminosäuren bei längerfristiger Proteinverarmung ein gegensinniges Verhalten aufweisen, Glycin und Alanin also erhöht, die verzweigtkettigen Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin aber erniedrigt sind (41, 45, 46), ist aus diesen Befunden ein Hungerzustand und kein Proteinmangel am Ende der Dialyse anzunehmen. Der Quotient

valin/Glycin zeigte zusätzlich gegen Ende der Dialyse eine signifikante Verbesserung im Sinne einer Tendenz zur Normalisierung.

Die Höhe der Aminosäurenverluste ist nach unseren Ergebnissen abhängig von der Konzentration freier Aminosäuren im Blut. Diese enge Korrelation wurde bereits von Kopple (30) beschrieben. Wie er, konnten auch wir keine Abhängigkeit der Aminosäurenverluste vom Molekulargewicht der einzelnen Aminosäuren nachweisen. Klinkmann (27) vermutete, daß der Durchtritt der Aminosäuren durch die Dialysemembran von der Struktur der Moleküle und nicht von ihrer Größe bestimmt wird.

Zahlreiche Autoren haben sehr unterschiedliche Angaben über die Aminosäurenverluste im Dialysat gemacht (s. auch Tab. 1). Rubini (3) fand bei Hämodialysepatienten durch Dialysanzmessungen 4,8 g Eiweißverlust im Dialysat, davon 50 % essentielle Aminosäuren. Poggitsch (38) wies im Dialysat durch Stichprobenentnahme Verluste von 2,8 g/Dialyse nach. Aviram (2) extrapolierte aus Dialysanzmessungen und der ebenfalls nur stichprobenartigen Aufbereitung von Dialysat Verluste von 5,6 - 11,5 g während einer 8-stündigen Dialyse. McGale (35) errechnete aus der arteriovenösen Differenz bei einer 10-stündigen Dialyse Aminosäurenverluste von 6 - 8 g. Mit dem gleichen Verfahren gab Woods (48) Verluste von nur 2 g an, während Doyle (10) bei 6 Untersuchungen Aminosäurenverluste von 1,3 - 2g/Stunde angab. Giordano (14, 15) wies an zwei unterschiedlichen Dialysatortypen Aminosäurenverluste von 1,4 - 3,3 g/Stunde nach, wobei der

Anteil gebundener Aminosäuren durch saure Hydrolyse erfaßt worden war. Kopple (30) ermittelte bei einer 11-stündigen Dialyse Gesamtverluste von 10 - 12 g aus dem Dialysat. Die Aminosäurenverluste waren bei den Patienten, die während der Dialyse Nahrung aufgenommen hatten, am größten.

Die Befunde der Plasmaamino-säurenspiegel im Blut bzw. deren Veränderungen durch die Dialyse zeigen ein ähnlich vielfältiges Bild: Held (20) ermittelte bereits 2 Stunden nach Dialysebeginn einen Abfall der Ausgangskonzentrationen um ein Drittel, Jenett (23) wies bei Kindern sogar einen Abfall der freien Aminosäuren um 50 % nach. Young (51, 52) beobachtete nur einen Abfall der essentiellen Aminosäuren. Bei Dialysanzversuchen in vitro ermittelte Riley (39) eine Halbwertszeit der Aminosäuren von 5 Minuten. Falkenhagen (11) berechnete die Aminosäurenverluste nach einer e-Funktion und konnte zu Beginn der Dialyse deutlich höhere Verluste nachweisen. Auch Klinkmann (26) beobachtete bei Dialysanzmessungen während der ersten Dialysestunden besonders hohe Aminosäurenverluste und warnte daher vor der Kurzzeitdialyse.

Eine kritische Überprüfung dieser o.g. Angaben über Aminosäurenverluste bei der chronischen Hämodialyse führte zu dem Schluß, daß die Arbeiten, die eher niedrige Verluste angeben, aus methodischen Gründen weniger glaubhaft sind. Dies gilt besonders für die Erfassung der gebundenen Aminosäuren, die in Form von Oligopeptiden ins Dialysat übertreten. Fast alle Autoren haben diese nicht in ihre

Kalkulation einbezogen und sind daher zu niedrigeren Aminosäurenverlusten gelangt. Weiterhin erscheint uns die Clearance-Bestimmung von Aminosäuren mit gelegentlichen Stichprobenentnahmen vor und nach dem Dialysator wenig sinnvoll. Während der Dialyse treten im Plasma sehr unterschiedliche und wechselnde Konzentrationen freier Aminosäuren auf, bedingt durch die Darmresorption aus der Nahrung sowie durch die Freisetzung aus dem "endogenen pool". Zum anderen ist aus dem Plasmaamino-säurenspiegel die Menge der ins Dialysat übertretenden Oligopeptide in keiner Weise zu erfassen. Indirekte Dialysanzmessungen im Blut sind daher auch aus diesem Grund grundsätzlich zur Beurteilung des Aminosäurenverlustes abzulehnen.

Der einzige sichere Weg, die Aminosäurenverluste zu bestimmen, ist die Messung im Dialysat. Allein durch die Bestimmung der Aminosäurenkonzentration im Dialysat ist auch der Verlust an Oligopeptiden zu erfassen.

Da die Aufbereitung mehrerer 100 l Dialysat schwierig, wenn nicht unmöglich ist, glauben wir, mit unserer Methode zur Gewinnung eines repräsentativen Anteils der Gesamt-Dialysatmenge, die objektivsten Angaben über den Aminosäurenverlust bei der Dialyse machen zu können.

Unter diesen methodischen Gesichtspunkten halten nur noch die Befunde von Giordano (15), Doyle (10) und Kopple (30) einer kritischen Prüfung stand. Obwohl verschiedene Dialysatoren verwandt wurden, haben diese Autoren mit unseren Befunden vergleichbare Werte angegeben.

3. Schlußfolgerungen

Eine Vielzahl von Faktoren und Dialysebedingungen muß, neben dem Plasmaamino säurenspiegel, auf den Aminosäurenverlust im Dialysat Einfluß haben. So sind hierfür sicherlich mitentscheidend: Membrantyp (25), Dauer und Frequenz der Dialyse, wirksame Dialysatoroberfläche, Höhe des Blut- und Dialysatflusses, transmembranöser Druck und Gesamtdauer der Dialysebehandlung. Unter definierten Dialysebedingungen ist der Verlust von Aminosäuren jedoch nur von der Höhe der Plasmaspiegel freier Aminosäuren und freier Oligopeptide abhängig.

Bei der Beurteilung von Aminosäurenverlusten durch die Dialyse sollte nicht vergessen werden, daß beim Gesunden physiologischerweise im Urin täglich Aminosäuren ausgeschieden werden, die quantitativ in einer vergleichbaren Größenordnung liegen (34). Hierbei handelt es sich um einen von der jeweiligen Ernährung abhängigen "overflow", der die Kapazität der tubulären Rückresorption überfordert. Eine überhöhte Aminosäurezufuhr wird beim Gesunden renal eliminiert, während beim Dialysepatienten diese Möglichkeit nicht oder nicht ausreichend besteht. Überhöhte Aminosäurenspiegel müssen also entweder als Aminosäuren oder als stickstoffhaltige Metabolite durch die Dialyse entfernt werden. Es ist also zu fragen, ob ein dialysebedingter Aminosäurenverlust nicht auch teilweise therapeutisch erwünscht sein kann. So ist z.B. bei niereninsuffizienten Patienten Phenylalanin infolge eines urämisch bedingten Stoffwechseldefekts mit enzymatischer Blockierung

der Phenylalanin-Hydroxylase erhöht (3).
Der Abfall des Phenylalaninspiegels durch die Dialyse kann also im Sinne der Entfernung eines Retentionsproduktes aufgefaßt werden.

Unter diesen Gesichtspunkten, insbesondere der von uns konstatierten Hungersituation des dialysierten Patienten ohne Hinweis auf einen Proteinmangel, ist die Forderung zahlreicher Autoren (4, 12, 14, 31, 32) nach einer Substitutions-
therapie mit Aminosäuren sehr kritisch zu betrachten. Besondere Aufmerksamkeit verdient dabei sicherlich die Frage, ob die pathologischen Veränderungen bei Dialysepatienten als dialysebedingter Mangelzustand oder als urämiespezifisches Symptom der Niereninsuffizienz anzusehen sind.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Aminosäurenverluste im Dialysat bei chronisch hämodialysierten Patienten wurden in 34 Einzeluntersuchungen gemessen.
2. Die Verluste freier Aminosäuren im Dialysat wurden mit $8,06 \pm 5,04$ g (essentielle Aminosäuren: 2,9 g) ermittelt. Der Gesamtverlust (freie Aminosäuren und niedermolekulare Peptide) lag mit $13,44 \pm 5,55$ g (essentielle Aminosäuren: 3,63 g) deutlich höher. Die Dialysanzberechnungen für Aminosäuren zeigten im Mittel einen transmembranösen Verlust von 36,6 ml/min. Ein Zusammenhang zwischen dem Molekulargewicht und der Dialysanz einzelner Aminosäuren bestand nicht. Der Aminosäurenverlust im Dialysat war hochsignifikant abhängig von der Plasmakonzentration zu Beginn der Dialyse ($p < 0,001$).

Die Plasma-Aminosäurenspiegel lagen am Ende der fast 12-stündigen Dialyse (695 ± 29 min) nicht signifikant unter den Werten zu Beginn der Dialyse, auch die essentiellen Aminosäuren waren gegen Dialyseende nur gering abgesunken.
3. Durch den Aminosäurenverlust wird jeweils gegen Ende der Dialyse ein Hungerzustand am Aminosäurenspektrum nachweisbar.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Armstrong, M.D., U.Stave:
A study of plasma free amino acid levels. IV. Characteristic individual levels of the amino acids.
Metabolism 22, 1973, 821

Aviram, A., J.H.Peters, P.F.Gulyassy:
Dialysance of amino acids and related substances.
Nephron 8, 1971, 440
2. Bergström, J., P.Fürst, L.-O.Norée, E.Vinnars:
The effect of peritoneal dialysis on intracellular free amino acids in muscle from uraemic patients.
Proc.Eur.Dial.Transpl.Assoc. 9, 1972, 393
3. Berlyne, G.M., H.A.Lee, C.Giordano, C.de Pascale, R.Esposito:
Amino acid loss in peritoneal dialysis.
Lancet I, 1967, 1339
4. Breuer, J., G.Kaise, J.Breuer:
Säulenchromatographische Bestimmung von Aminosäuren im Serum von Normalpersonen sowie magenresezierten und gastrektomierten Patienten vor und nach einer Probemahlzeit.
Z.Klin.Chem. 6, 1968, 298
5. Bordan, V., E.Kuhn, J.Pechar, S.Tomkova:
Changes of free amino acids in plasma of healthy subjects induced by physical exercise.
Eur.J.appl.Physiol. 35, 1976, 69
6. Dickinson, C., H.Rosenblum, P.B.Hamilton:
Ion exchange chromatography of the free amino acids in the plasma of the newborn infant.
Pediatrics 36, 1965, 2
7. Dolif, D., P.Jürgens:
Untersuchungen über den Stickstoffhaushalt bei parenteraler Ernährung.
Zschr. Ernährungswissenschaft Suppl. 10, Parenterale Ernährung, Steinkopff, Darmstadt, 1971, 24
8. Doolan, P.D., H.A.Harper, R.H.Watten, M.E.Hutschin, R.O.Quanda:
Changes in plasma amino acids and blood oxygen content during dialysis with the Kolff-Merrill artificial kidney.
Trans.Amer.Soc.Artif.Intern.Org. 2, 1956, 113

10. Doyle, G.D., W.F.O'Dwyer, M.Carmody, V.Gallagher:
Quantitative and qualitative changes in plasma
amino nitrogen and amino acids during haemodialysis.
Ir.J.Med.Sc. 3, 1970, 475
11. Falkenhagen, D., M.Holtz, H.Klinkmann, B.Osten,
P.Wiechert:
Application of a mathematical model to the penetration
of amino acids through a dialysis membrane in chronic
hemodialysis.
Z. Gesamte Inn.Med. 30, 1975, 446
12. Fürst, P., J.Bergström, M.Ahlberg, L.-O.Noree,
E.Vinnars:
Stoffwechsel und Therapie bei akuten und chronischen
Nierenerkrankungen.
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 3, 1974, 234
13. Gehrke, Ch.W., H.Takeda:
Gas-liquid chromatographic analysis of tryptophan
in proteins.
J.Chromatogr. 76, 1973, 77
14. Giordano, C.:
Diet and amino acids in uremia.
Proc.Eur.Dial.Transpl.Assoc. 9, 1972, 419
15. Giordano,C., C.de Pascale, D.de Cristofaro,
G.Capodicasa, C.Balestrieri, K.Baczyk:
Protein malnutrition in the treatment of chronic
uremia. In: Berlyne,G.: Nutrition in Renal Disease,
Livingstone, Edinburgh, London, 1968, 23
16. Gulyassy, P.F., A.Aviram, J.H.Peters, M.Park:
Evaluation of amino acid and protein requirements
in chronic uremia.
Arch.Intern.Med. 126, 1970, 855
17. Gulyassy, P.F., J.H.Peters, S.C.Lin, P.M.Ryan:
Hemodialysis and plasma amino acid composition in
chronic renal failure.
Am.J.Clin.Nutr. 21, 1968, 565
18. Gulyassy, P.F., J.H.Peters, P.Schoenfeld:
Transport and protein binding of tryptophan in uremia.
In: Kluthe,R., G.Berlyne, B.Burton (eds.): Uremia,
Thieme, Stuttgart, 1973, 163
19. Hamilton, P.B.:
In: Handbook of Biochemistry, Selected Data for
Molecular Biology. Ed. H.A.Sober, The Chemical Rubber
Co, Cleveland, Ohio, 1968, B 43

20. Held, E., W.Winkelmann, K.Finke, H.v.Dehn,
G.Seyffart, H.J.Gurland:
Plasma-Aminosäuren bei chronischer Niereninsuffizienz.
Klin.Wschr. 52, 1974, 948
21. Hess, S.M., S.Udenfriend:
A fluorometric procedure for the measurement of
tryptamine in tissues.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 127, 1959, 175
22. Hussein, M.H., V.R.Young, E.Murray, N.S.Scrimshaw:
Daily fluctuation of plasma amino acid levels in
adult men: effect of dietary tryptophan intake and
distribution of meals.
J.Nutri. 101, 1971, 61
23. Jenett, W., L.Diekmann, K.Michelis:
Loss of amino acids in children on chronic haemo-
dialysis.
Proc.Dial. and Transpl.Assoc. 13, 1977, im Druck
24. Iob, V., M.McMath, W.M.Coon:
Intra-individual and inter-individual variations
in plasma free amino acids in normal adults.
J.Surg.Res. 3, 1963, 85
25. Katz, N.R., M.Keck:
Vergleich von Aminosäuren in menschlichem Serum
und Plasma
J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 15, 1977, 89
26. Klinkmann, H., M.Holtz:
The permeation of essential amino acids through
different dialysis membranes.
Proc.Eur.Dial.Transpl.Assoc. 9, 1972, 402
27. Klinkmann, H., M.Holtz, P.Wiechert:
Experimentelle und klinische Untersuchungen zur
Permeation von Aminosäuren durch Zellulosemembranen.
Dtsch.Ges. wesen 29, 1974, 54
28. Kluthe, R., G.Baumann, V.Bischoff, H.Quirin:
Serumtransferrin und Eiweißernährung bei chronisch
intermittierender Hämodialyse.
Med.Ern. 12, 1971, 73
29. Kopple, J.D., M.E.Swendseid:
Protein and amino acid metabolism in uremic patients
undergoing maintenance hemodialysis.
Kidney Internat. 7, Suppl.2, 1975, 64

30. Kopple, J.D., M.E.Swendseid, J.H.Shinaberger,
Ch.Y.Umezawa:
The free and bound amino acids removed by hemo-
dialysis.
Trans.Amer.Soc.Artif.Intern.Organs 19, 1973, 309
31. Kult, J., M.von Finck, P.Frank, A.Heidland:
Bedeutung der Aminosäurensubstitution für den Protein-
stoffwechsel regelmäßig dialysierter Patienten.
Infusionstherapie 1, 1973, 124
32. Kult, J., U.Richter, A.Röckel, A. Heidland:
Die Bedeutung der Aminosäurensubstitution bei chro-
nisch intermittierender Hämodialysebehandlung.
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 3, 1974, 6
33. Kult, J., U.Richter, E.Scheitza, H.Hennemann,
A.Heidland:
Störungen im Komplementsystem bei Niereninsuffizienz
und ihre Beeinflussung durch Aminosäurensubstitution.
Dtsch.med.Wschr. 99, 1974, 339
34. Liappis, N.:
Geschlechtsspezifische Unterschiede der freien
Aminosäuren im Serum von Erwachsenen.
Z.klin. Chem.klin.Biochem. 10, 1972, 132
35. McGale, E.H.F., J.C.Pickford, G.M.Aber:
Quantitative changes in plasma amino acids in
patients with renal disease.
Clin.Chim.Acta 38, 1972, 395
36. Perry, Th.L., S.Hansen:
Technical pitfalls leading to errors in the
quantitation of plasma amino acids.
Clin.Chim.Acta 25, 1969, 53
37. Peters, J.H., P.F.Gulyassy, S.C.Lin, P.M.Ryan,
B.J.Berridge, W.R.Chao, J.G.Cummings:
Amino acid pattern in uremia: Comparative effects
of hemodialysis and transplantation.
Trans.Amer.Soc.Artif.Int.Organs 14, 1968, 405
38. Poggitsch, H., H.Stübchen-Kirchner, G.Stöckl,
H.Feldner:
Über Eiweiß- und Aminosäurenausscheidung bei
extrakorporalen Hämodialysen.
Wien.Zschr. inn.Med. 49, 1968, 218
39. Riley, V.:
Dialysis dementia: Probably not asparagine
deficiency.
Lancet II, 1973, 1275

40. Rosen, H., W.H.Meroney, S.M.Levenson:
Plasma amino acids in patients with renal failure.
Effect of extracorporeal haemodialysis.
Clin.Sci. 17, 1958, 653
41. Rubini, M.E., S.Gordon:
Individual plasma-free amino acids in uremics:
effect of hemodialysis.
Nephron 5, 1968, 339
42. Sapir, D.G., M.Walser:
Nitrogen sparing induced early in starvation by
infusion of branched-chain ketoacids.
Metabolism 26, 1977, 301
43. Schaeffer, G., N.Katz, A.Südhoff, W.Zimmermann,
R.Kluthe:
Über die Bedeutung des E/T-Quotienten bei der
parenteralen Ernährung.
Akt.Ernähr. 2, 1977, 29
44. Schoppe, W.-D., E.Dirks, E.Schnurr, U.Kindler:
Proteinverlust bei Peritonealdialysen.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 82, 1976, 1565
45. Snyderman, S.E.:
The influence of protein and amino acid intake on
the plasma amino acid pattern.
In: Lang, K., Stoffwechsel
Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1972, 32
46. Snyderman, S.E., P.M.Norton, E.Roitman, L.E.Holt:
The effect of diet on the plasma aminogram.
Am.J.Clin.Invest. 45, 1966, 1075
47. Soupart, P.:
Free amino acids of blood and urine in the human.
In: Holden, J.T.: Amino acid pools, Elsevier,
Amsterdam, London, New York 1962, 220
48. Woods, K.R., A.L.Rubin, E.H.Luckey:
Effects of dialysis with the artificial kidney on
plasma amino acids in uremic patients.
Trans.Am.Soc.Artif.Int.Org. 7, 1961, 83
49. Wurtman, R.J., C.M.Rose, C.Chou, F.P.Larin:
Daily rhythms in the concentrations of various
amino acids in human plasma.
N.Engl.J.Med. 279, 1968, 171

50. Young, G.A., J.B. Keogh, F.M. Parsons:
Plasma amino acids and protein levels in chronic renal failure and changes caused by oral supplements of essential amino acid.
Clin.Chim. Acta 61, 1975, 205
51. Young, G.A., F.M. Parsons:
Plasma amino acid imbalance in patients with chronic renal failure on intermittent dialysis.
Clin.Chim. Acta 27, 1970, 491
52. Young, G.A., F.M. Parsons:
Plasma and urine amino acid imbalance in chronic renal failure.
Proc.Eur.Dial.Transpl.Assoc. 7, 1970, 167
53. Zanetta, J.P., G. Vincendon:
Gas liquid chromatography of the N (0)-hepta-fluorobutyrate of the isoamylesters of amino acids. I. Separation and quantitative determination of the constituent amino acids of proteins.
J.Chromatogr. 76, 1973, 91
54. Zimmermann, W., G. Schaeffer, B. Schäfer, N. Katz, A. Südhoff, R. Kluthe:
Anthropometrische Untersuchungen bei chronisch hämodialysierten Patienten als Maß für den Ernährungszustand.
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 5, 1976, 72
55. Zimmermann-Telschow, H., H. Müller-Wecker:
Beziehungen zwischen Stickstoff-Bilanz und Aminosäuren, freien Fettsäuren, Glucose und Insulin im Blut in verschiedenen Stoffwechselsituationen des menschlichen Organismus.
Hoppe Seylers Z.Physiol.Chem. 357, 1976, 695

Ich danke Herrn Dr. E. Hecking für die Überlassung des Themas und seine hilfsbereite Unterstützung bei der Versuchsdurchführung und -auswertung.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. K. Schicketanz vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Mainz für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Herrn Prof. Dr. A. Distler und Herrn Prof. Dr. Th. Philipp danke ich für die Übernahme des Referates und Koreferates dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 27. September 1946 wurde ich als einziges Kind der Eheleute Johannes und Sigrid Dörr, geb. Schulze in Zwickau/Sa. geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule und der ersten drei Gymnasialklassen in Stuttgart, übersiedelte ich mit meinen Eltern nach Pforzheim. Am dortigen neusprachlich-naturwissenschaftlichen Kepler-Gymnasium legte ich 1968 das Abitur ab.

Nach einem viersemestrigen Studium der Fächer Germanistik, Geschichte und Politikwissenschaft an der Universität Stuttgart nahm ich zum WS 1970/71 an der Universität Mainz das Studium der Zahnheilkunde auf.

Am 27.9.1971 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung, am 28.3.1973 die zahnärztliche Vorprüfung und am 5.11.1975 das zahnärztliche Staatsexamen.

Seit April 1976 arbeite ich als Zahnarzt in der Praxis von Dr. H.U. Bauer in Mörlenbach/Odenwald.



